文章编号:1000-5404(2007)20-1947-04

论著

牛磺酸对高原低氧大鼠血清葡萄糖水平及小肠组织GLUT2、GLUT5 mRNA表达的影响

白 雪,糜漫天,陈 芳 (第三军医大学军事预防医学院营养与食品卫生学教研室,重庆市营养与食品安全重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 观察牛磺酸对高原低氧大鼠血清葡萄糖水平及小肠组织GLUT2、GLUT5 mRNA表达的影响。**方法** 动物经基础饲料或添加牛磺酸饲料喂养7 d后,利用低压舱分别模拟4 500、5 500 m海拔高度高原低氧,分别在高原低氧处理后第2、6、12、24、48、72小时处死动物,同时设平原对照组,测定血清葡萄糖水平,并剪取小肠组织,RT-PCR检测GLUT2、GLUT5 mRNA表达。**结果** 低氧条件下大鼠血清葡萄糖水平明显下降,小肠组织中GLUT2、GLUT5的表达显著降低,但添加牛磺酸组血清葡萄糖水平及小肠组织中GLUT2、GLUT5的表达均明显高于相应对照组。**结论** 牛磺酸能够显著提高高原低氧大鼠血清葡萄糖水平及小肠组织中GLUT2、GLUT5的表达。

关键词: 高原低氧;牛磺酸;血清葡萄糖;GLUT2;GLUT5
中图法分类号: R151.2;R339.54;R977.4 **文献标识码:** A

Effect of taurine on serum glucose and expression of GLUT2, GLUT5 in intestinal tissue of rats exposed to hypobaric hypoxia

BAI Xue, MI Man-tian, CHEN Fang (Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing Key Laboratory of Nutrition and Food Safety, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the effect of taurine on serum glucose and expression of GLUT2, GLUT5 in the intestinal tissue of rats exposed to hypobaric hypoxia. **Methods** After 7-day nutritional intervention with taurine, rats were exposed to 4 500-meter and 5 500-meter high altitude in a hypobaric chamber respectively. The level of serum glucose and the expressions of GLUT2, GLUT5 in the intestinal tissue were determined at 2nd, 6th, 12th, 24th, 48th, 72th h after taurine intervention. **Results** After exposure to hypobaric hypoxia, the serum glucose and the expressions of GLUT2, GLUT5 in intestinal tissue decreased significantly. However, they were higher in taurine intervention groups at each phase point than that in control groups. **Conclusion** The taurine intervention can increase the serum glucose and the expressions of GLUT2, GLUT5 in the intestinal tissue of rats after exposure to hypobaric hypoxia.

Key words: hypobaric hypoxia; taurine; serum glucose; GLUT2; GLUT5

急性高原低氧会引起明显的葡萄糖吸收、代谢异常,严重时甚至会引起能量衰竭[1,2]。葡萄糖转运蛋白(glucose transports, GLUTs)是体内负责葡萄糖吸收、转运的重要蛋白质,其表达与调控对于机体对葡萄糖的吸收、代谢具有重要影响。牛磺酸(Taurine)是一种含硫氨基酸,为人体条件必需氨基酸,在体内具有广泛、优良的生理活性,研究表明,牛磺酸对高原低氧造成的脑损伤、心肌损伤以及视网膜损伤等均具有良好的防护作用[3-5]。本实验运用低压舱模拟不同高度高原低氧环境,并在多个时相点进行观测,观察牛磺酸对高原低氧大鼠葡萄糖代谢以及小肠组织GLUT2和GLUT5表达的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型与分组

清洁级成年SD大鼠(45 d龄)208只,体质量(200±50)g,雄性,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心

基金项目: 全军医学科研"十一五"计划专项课题(06Z028)
Supported by the Key Research Project of the "Eleventh Five-Year Plan" of PLA(06Z028)

作者简介: 白 雪(1978-),女,山东省泰安市人,硕士研究生,医师,主要从事营养与疾病方面的研究。电话:(023)68752291, E-mail:bx123bx@163.com
通讯作者: 糜漫天,电话:(023)68752292

收稿日期: 2007-01-29;**修回日期:** 2007-04-12

提供，随机分为平原对照组（C）、平原牛磺酸组（Tau）、4 500 m 低氧组（45H）、4 500 m 低氧＋牛磺酸组（45HT）、5 500 m 低氧组（55H）和5 500 m 低氧＋牛磺酸组（55HT）6 组，C 组与 Tau 组每组 8 只，其余4 组每组48 只，下设2、6、12、24、48、72 h 共 6 个时相点。C 组和 45H、55H 组喂食基础饲料，Tau 组、45HT、55HT 组在基础饲料基础上添加 2.4% 的牛磺酸进行喂食，各组自由进食及饮水。动物分组喂养 7 d 后，45H、45HT、55H、55HT 4 组分别置于低压氧舱模拟海拔 4 500 m 和 5 500 m 高度进行高原低氧处理，减压速度为 100 m/min。减压至实验设定的高度后，维持此高度。按设计的条件进行低氧处理，分别在 2、6、12、24、48、72 h 后将动物迅速移出并取材，C 组和 Tan 组在 0 h 处死取材。

1.2 主要试剂

牛磺酸购于北京世纪维他生物技术有限公司，Trizol 分离试剂、Erasol 购于华氏生物技术公司，RNA 酶抑制剂、dNTP 购于上海生工生物工程技术服务有限公司，M-MuLV 逆转录酶、Olig-(dT)18、*Taq* DNA 聚合酶购于 Promega 公司，溴化乙啶购于 Sigma 公司，PCR 标准购于北京天为时代科技公司。

1.3 指标检测

1.3.1 血清葡萄糖含量的测定　后眼眶静脉丛取血，静置，离心，分离血清，利用葡萄糖酶氧化法测定血清葡萄糖含量。

1.3.2 小肠组织总 RNA 的提取　处死动物，剪取小肠组织 0.1 g，制备组织匀浆，利用 Trizol 试剂抽提数次，常规提取总 RNA。每个样品取 1 μl，ddH_2O 稀释 200 倍后用核酸蛋白定量仪测定 RNA 含量与纯度。整个过程所有使用的器械及液体均经 0.1% DEPC 水处理，戴消毒手套操作，防止 RNA 酶污染。

1.3.3 RT-PCR 检测 GLUT2、GLUT5 mRNA 表达　上述方法提取的总 RNA 3 μg，65 ℃水浴 5 min 和 0 ℃冰浴 5 min 后，依次加入 RNA 酶抑制剂 20 U、10 mmol/L dNTP 2 μl、$Oligo(dT)_{18}$ 1 μg、5 × 反应缓冲液 4 μl、M-MuLV 逆转录酶 200 U，加 Erasol 处理的去离子水至 20 μl，37 ℃孵育 1 h，再于 70 ℃放置 10 min 终止反应。取逆转录产物 3 μl 进行 PCR 反应。引物应用 Primer 5.0 引物设计软件设计，由重庆升博生物技术公司合成。GLUT2、GLUT5 及内参照 β-actin 引物序列、退火温度及产物长度见表 1。扩增的反应参数为 95 ℃、5 min，94 ℃、1 min，Tm、1 min，72 ℃、1 min，共 35 个循环，72 ℃延长 10 min。反应结束后，各取 5 μl PCR 扩增产物，以含 0.5 μg/ml 溴化乙啶的 1.2% 琼脂糖凝胶进行电泳，紫外透射仪下进行观察，并用凝胶成像系统进行照相。

表 1 PCR 引物序列及退火温度

名称	引物序列	产物长度(bp)	退火温度(℃)
β-actin	上游：5′-AAGTCCCTCACCCTCCCAAAAG-3′ 下游：5′-AAGCAATGCTGTCACCTTCCC-3′	100	57.2
GLUT2	上游：5′-CACCAGCACATACGACCAGAC-3′ 下游：5′-ATCAAGAGGGCTCCAGTCAACG-3′	208	63.7
GLUT5	上游：5′-GAGCTTAATGACCTCCCACC -3′ 下游：5′-TGTTACAAGACCCTCGCCAC -3′	298	58.6

1.4 统计学处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行多因素方差分析。

2 结果

2.1 牛磺酸对低氧大鼠血清葡萄糖水平的影响

与 C 组相比，大鼠在 4 500 m 和 5 500 m 急性低氧处理后 6 h 血清葡萄糖水平均显著降低（$P < 0.05$），但 45HT 组和 55HT 组血清葡萄糖降低水平均低于相应的 45H 组和 55H 组，并在低氧 12 h 后出现显著差异（$P < 0.05$）；Tau 组与 C 组之间无明显差异（$P > 0.05$），见表 2。

表 2 血清葡萄糖水平检测结果（mmol/L，$n = 8$，$\bar{x} \pm s$）

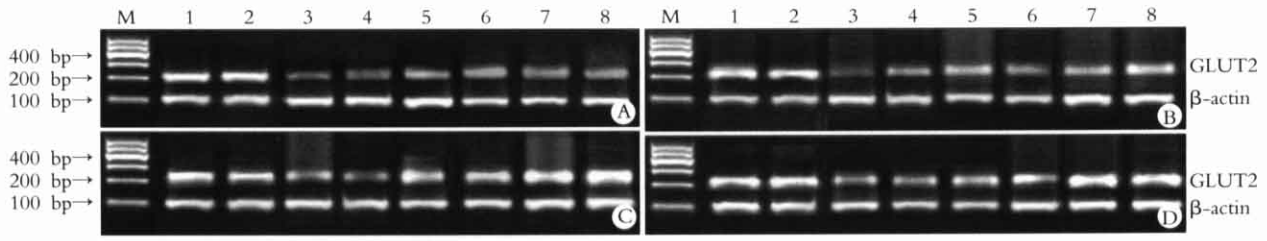
组别	2 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
4 500 m 低氧组	5.03 ± 0.42	4.61 ± 0.39[a]	3.52 ± 0.30[a]	3.14 ± 0.28[a]	2.73 ± 0.21[b]	2.12 ± 0.18[b]
4 500 m 低氧＋牛磺酸组	5.04 ± 0.48	4.80 ± 0.37[a]	4.22 ± 0.32[ac]	3.48 ± 0.35[a]	3.19 ± 0.34[ac]	3.02 ± 0.24[bc]
5 500 m 低氧组	4.82 ± 0.43	4.54 ± 0.40[a]	3.42 ± 0.39[a]	2.47 ± 0.34[b]	2.25 ± 0.31[b]	2.03 ± 0.28[b]
5 500 m 低氧＋牛磺酸组	4.90 ± 0.48	4.86 ± 0.42[a]	4.03 ± 0.37[a]	3.26 ± 0.30[ad]	2.86 ± 0.35[bd]	2.67 ± 0.27[bd]

平原对照组：(5.12 ± 0.39)；平原牛磺酸组：(5.21 ± 0.35)

a：$P < 0.05$，b：$P < 0.01$ 与平原对照组比较；；c：$P < 0.05$，与 4 500 m 低氧组比较；d：$P < 0.05$，与 5 500 m 低氧组比较

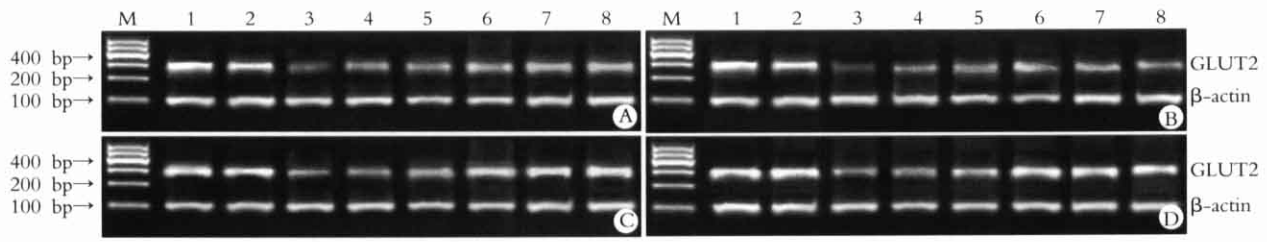
2.2 牛磺酸对低氧大鼠小肠组织 GLUT2、GLUT5 mRNA 表达的影响

RT-PCR 结果显示，C 组和 Tau 组 GLUT2 mRNA 的表达较强，两组之间无明显差异（$P > 0.05$）。4 组高原低氧大鼠 GLUT2 mRNA 的表达较 C 组均明显下降，且 55H 组比 45H 组下降程度大，同时缺氧早期下降幅度大于缺氧后期，缺氧处理后 2 h 各组下降程度最大，随后逐渐回升，45HT 组与 55HT 组 GLUT2 mRNA 的表达比相应的 45H 组和 55H 组明显较强（$P < 0.05$），且在低氧处理 72 h 后两组的 GLUT2 mRNA 表达基本恢复到正常水平。GLUT5 mRNA 表达的 RT-PCR 测定结果基本与 GLUT2 相似，低氧各组表达明显下降，且 55H 组比 45H 组下降程度大，同时缺氧早期下降幅度大，随后逐渐回升，45HT 组与 55HT 组的表达比相应的 45H 组和 55H 组明显较强（$P < 0.05$），见图 1、2。



A：4 500 m 低氧组；B：5 500 m 低氧组；C：4 500 m 低氧 + 牛磺酸组；D：5 500 m 低氧 + 牛磺酸组　M：标准；1：平原对照组；2：平原牛磺酸组；3：2 h；4：6 h；5：12 h；6:24 h；7：48 h；8：72 h

图 1　GLUT2 mRNA 表达的 RT-PCR 检测结果



A：4 500 m 低氧组；B：5 500 m 低氧组；C：4 500 m 低氧 + 牛磺酸组；D：5 500 m 低氧 + 牛磺酸组　M：标准；1：平原对照组；2：平原牛磺酸组 3：2 h；4：6 h；5：12h；6:24 h；7：48 h；8：72 h

图 2　GLUT5 mRNA 表达的 RT-PCR 检测结果

3　讨论

急性高原低氧会引起明显的葡萄糖吸收、代谢异常，影响脑体功能，严重时甚至会引起能量衰竭。本实验研究结果表明，实验大鼠模拟 4 500 m 和 5 500 m 急性低氧处理后 2 h 既可见血清葡萄糖水平下降，6 h 后既出现显著差异，可见机体血糖水平对高原缺氧极为敏感，急性缺氧会使机体血糖水平明显降低，影响机体正常能量代谢和各项机能，同时实验结果还提示，45HT 组和 55HT 组血清葡萄糖降低水平均低于相应的 45H 组和 55H 组，并在缺氧 12 h 后出现显著差异，可见膳食摄入一定量的牛磺酸能够有效抑制高原低氧导致的血糖水平下降。牛磺酸是一种含硫氨基酸，为人体条件必需氨基酸，在体内具有广泛、优良的生理活性，研究表明，牛磺酸对高原低氧造成的脑损伤、心肌损伤以及视网膜损伤等均具有良好的防护作用，本课题的先前研究表明，牛磺酸对高原低氧造成的肠黏膜损伤也具有良好的保护作用。因此，牛磺酸显著抑制高原低氧造成的血糖水平下降，应该主要在于其对机体的整体防护效果，特别是对肠黏膜、肠组织葡萄糖主要吸收场所的保护作用[6]。

葡萄糖转运蛋白是体内负责葡萄糖吸收、转运的重要蛋白质，其表达与调控对于机体对葡萄糖的吸收、代谢具有重要影响。GLUTs 现已鉴定出 5 个亚型：GLUT1、GLUT2、GLUT3、GLUT4 和 GLUT5。GLUT1 分布于血液、脑、胎盘以及广泛的成熟组织中；GLUT2 分布于肝、胰腺的 B 细胞、肾和小肠中，它是肾和肠上皮细胞中易化葡萄糖转运的基本载体；GLUT3 分布于脑、胎盘及所有人体组织中，主要在神经组织中表达；GLUT4 分布于白色、棕色脂肪组织和骨骼肌、心肌中，为胰岛素敏感的葡萄糖转运载体；GLUT5 是果糖转运载体、主要分布于空肠中，因此，GLUT2 和 GLUT5 是小肠中负责葡萄糖吸收、转运的载体，其表达水平对葡萄糖的吸收极为重要[7,8]。本实验的研究结果表明，正常大鼠小肠组织中 GLUT-2、GLUT-5 的 mRNA 的表达水平均较高，在缺氧早期，二者 mRNA 的表达有显著的降低，这是由于机体突然暴露在缺氧环境中，各项功能表现出急性下降，随着缺氧时间的延长，机体自身的调节作用开始发挥作用，24 h 后 GLUT-2、GLUT-5 mRNA 的表达逐步回升，到 72 h 接近恢复到正常水平，但 45H 和 55H 组 GLUT-2、GLUT-5 mRNA 的表达始终低于正常水平，而 45HT 和 55HT 组 72 h 时甚至高于正常组中的表达，可见小肠组织中的缺氧适应机制在缺氧过程中逐步得到巩固和完善。缺氧诱导因子的诱导性高表达对于机体在缺氧过程中的适应性反应具有核心作用，特别是缺氧诱导因子-1（HIF-1）的表达，能够激活下游众多基因，启动机体对缺氧的适应反应，HIF-1 是众多缺氧分子信号传导的激活信号，GLUTs 也是

HIF-1的下游调节基因，HIF-1的大量表达能够激活GLUTs的表达，提高机体在缺氧条件下对葡萄糖的吸收和转运[9,10]。本实验的先前研究证实，牛磺酸能够提高实验大鼠缺氧条件下HIF-1α和HIF-1β的表达，增强机体对缺氧的适应反应能力，因此可以推断，牛磺酸很可能是通过提高小肠组织中HIF-1的表达从而提高GLUT-2和GLUT-5的表达的。

参考文献：

[1] 糜漫天，郭长江. 军事营养学[M]. 北京：人民军医出版社，2004：58－61.

[2] Abellan R, Remacha F, Ventura R, *et al*. Hematologic response to four weeks of intermittent hypobaric hypoxia in highly trained athletes [J]. Haematologica, 2005, 90(1): 126－127.

[3] 刘戟环，糜漫天，张乾勇，等. 模拟海拔5 000 m高原间断性缺氧对大鼠视网膜的损伤及牛磺酸的防护作用[J]. 第三军医大学学报，2004，26(21)：1936－1939.

[4] 祝井芬，马季骅，张培华. 牛磺酸对低氧条件下豚鼠心室肌细胞动作电位和ATP敏感性钾电流的影响[J]. 中国病理生理杂志，2005，21(1)：92－95.

[5] 陈 芳，糜漫天，白 雪. 牛磺酸对高原缺氧大鼠视网膜形态结构及SDH、LDH活性的影响[J]. 第三军医大学学报，2006，28(6)：565－568.

[6] 白 雪，糜漫天，陈 芳. 牛磺酸对高原缺氧大鼠小肠黏膜上皮细胞损伤的保护作用[J]. 实用医药杂志，2006，23(7)：829－831.

[7] Leturque A, Brot-Laroche E, Le-Gall M, *et al*. The role of GLUT2 in dietary sugar handling[J]. J Physiol Biochem, 2005, 61(4): 529－537.

[8] Martynyuk A E, Glushakov A V, Sumners C, *et al*. Impaired glutamatergic synaptic transmission in the PKU brain [J]. Mol Genet Metab, 2005, 86 (Suppl 1): S34－S42.

[9] Corpe C P, Bovelander F J, Munoz C M, *et al*. Cloning and functional characterization of the mouse fructose transporter, GLUT5[J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1576(1－2): 191－197.

[10] Beard K M, Lu H, Ho K, *et al*. Bradykinin augments insulin-stimulated glucose transport in rat adipocytes via endothelial nitric oxide synthase-mediated inhibition of Jun NH2-terminal kinase[J]. Diabetes, 2006, 55(10): 2678－2687.

（编辑 王小寒）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2007)20-1950-01

巨大深静脉血栓误诊为肾病综合征1例

赵洪雯，余荣杰，刘 宏，干 磊，吴雄飞 （第三军医大学西南医院肾科，重庆 400038）

1 病例资料

患者女性，25岁，因剖宫产术后双下肢水肿进行性加重伴尿蛋白异常40 d入院。患者在怀孕期间断出现双下肢轻度水肿，尿蛋白(++)，肾功能正常，未予重视。足月剖宫产下健康婴儿。术后开始出现持续性下肢水肿，尿量1 000 ml/d左右，当地医院查尿蛋白(+～++)，尿蛋白定量未查，血清白蛋白34 g/L，肝肾功能正常，诊断为肾病综合征，慢性肾小球肾炎。予强的松1 mg·kg^{-1}·d^{-1}，晨起顿服，辅以口服和静脉利尿剂利尿，水肿仍进行性加重，并逐渐出现腹胀、尿量减少，遂转至我院，以“慢性肾小球肾炎”收入。

2 治疗与结果

入院查体：体温36.5 ℃，心率92次/min，呼吸23次/min，血压130/80 mmHg，颜面眼睑无水肿，心肺未见阳性体征。腹软，无压痛及反跳痛，肝脾未扪及，腹部移动性浊音可疑阳性。耻骨联合上三指有一剖宫产横切疤痕，愈合良好。双上肢活动可，下肢因水肿而活动受限。双下肢皮温略低，皮肤颜色无明显变化。膝关节以下重度压陷性水肿，大腿紧绷感，双下肢周径左右相近。急诊进行相关实验室检查：尿常规蛋白(+)，红细胞(－)；血常规WBC13.2×10^9/L，N0.78，Hb152 g/L，PLT458×10^9/L；血糖、血脂、肝肾功能正常；凝血酶原时间、活化部分凝血酶时间、纤维蛋白原均正常。再次追问病史，诉双下肢水肿出现时间略有差别，右下肢先于左下肢，间隔约1周。排除肾病综合征、慢性肾小球肾炎。立即行深静脉超声检查，发现深静脉巨大血栓，向上超过肾静脉开口平面，向下延伸至胭静脉以下。立即请介入科会诊后转科，于当天开始静脉溶栓，同时拟分次介入局部溶栓治疗。第1次介入溶栓持续8 h，效果良好，准备进行第2次介入溶栓时，患者强烈要求出院，放弃治疗。

3 讨论

静脉血栓的形成与静脉血流缓慢和血液高凝状态有关，尤其是妊娠期，凝血因子和凝血酶增加，抗凝血酶水平下降，血液

（下转1953页）

作者简介：赵洪雯(1970－)，女，北京市昌平区人，博士研究生，主治医师，讲师，主要从事慢性肾脏病和肾移植方面的研究，电话：(023)68765335，E－mail：zhaohongwen0212@yahoo.com.cn

作者简介：吴雄飞，电话：(023)68754188

收稿日期：2007-08-31；修回日期：2007-09-24